نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 1، فروردین-اردیبهشت 1397 ص. 92-81

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 1, Apr. May. 2018, p. 81- 92

بررسی ترکیبات فعال زیستی آب آلبالو تلخه (*White mahaleb* L.)

فیروزه بذرافکن[1]- سهیلا زرین‌قلمی[2]*- علی گنجلو[2]

تاریخ دریافت: 1395/03/26
تاریخ پذیرش: 1396/02/02

چکیده

در این پژوهش میزان ویتامین ث، ترکیبات فنل کل (TPC)، فلاونوئید کل (TFC)، آنتوسیانین کل و همچنین ارزیابی فعالیت ضداکسایشی و ضدمیکروبی، آب آلبالو تلخه (*White mahaleb* L.) مورد بررسی قرار گرفت. میزان ویتامین ث به روش اسپکتروفتومتری، مقدار فنل کل با روش فولین سیوکالتیو، فلاونوئید کل توسط روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید، آنتوسیانین کل به روش متانول اسیدی و فعالیت ضداکسایشی به روش‌های درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) و قدرت احیاءکنندگی هیدروژن پراکسید انجام گرفت. بررسی فعالیت ضدمیکروبی آب آلبالو تلخه بر سویه‌های میکروبی *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *آسپرژیلوس فلاووس* و *پنی‌سیلیوم کرایسوژنوم*، به روش انتشار چاهک و در نهایت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی به روش ماکرودایلوشن براث و حداقل غلظت کشندگی با کشت سطحی انجام گردید. مطابق نتایج به‌دست آمده، میزان ویتامین ث 0/01±39/26 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر، مقدار فنل کل 0/06±303/00 میلی‌گرم گالیک اسید در 100 میلی‌لیتر، فلاونوئید کل 0/01±17/00 میلی‌گرم روتین در میلی‌لیتر و میزان آنتوسیانین کل 0/93±871/63 میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین شد. میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی هیدروژن پراکسید توسط آب آلبالو تلخه به‌ترتیب 72/30 و 6/33 درصد مشخص شد. آب آلبالو تلخه اثر بازدارندگی روی کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *پنی‌سیلیوم کرایسوژنوم* نداشت و حداقل غلظت مهارکنندگی آن بر 10^2CFU/ml از باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب در غلظت‌های 0/9 و 0/8 درصد از آب میوه مشاهده شد. همچنین اثر کشندگی بر هیچ یک از باکتری‌های مورد بررسی مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: آب آلبالو تلخه، ترکیبات فعال زیستی، فعالیت ضداکسایشی، فعالیت ضدمیکروبی

مقدمه

آلبالو تلخه یا محلب با نام علمی *Prunus mahaleb*، میوه‌ای کروی شکل و به رنگ بنفش تیره است. این میوه از خانواده *Rosaceae* است که در زبان انگلیسی *White mahaleb* نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این میوه در بیشتر نقاط دنیا از جمله شرق و مرکز اروپا و غرب آسیا و در گستره ایران، استان‌های آذربایجان، کردستان، لرستان، اصفهان، چهار محال و بختیاری، یزد، زنجان و همدان است. به دلیل حضور رنگدانه‌های آنتوسیانین بنفش رنگ و مفید برای سلامتی، این میوه در طب سنتی بسیار مورد توجه بوده است. از خواص دارویی مهم این میوه می‌توان به تقویت قلب، شش، جگر، کبد، طحال، رفع درد پهلو، خارج کردن خلط‌های سینه ناشی از سینوزیت و همچنین درمان غش اشاره کرد (قارونی و همکاران1391 ;Ieri *et al*., 2012; Mariod *et al*., 2010).

در سال‌های اخیر به منابع طبیعی حاوی رنگدانه‌های آبی- بنفش توجه بسیاری شده است. تحقیقات مختلف انجام شده روی میوه‌های حاوی رنگدانه‌های آبی یا قرمز تیره، بیانگر غنی بودن آن‌ها از ترکیبات فعال زیستی و سلامت بخش طبیعی است. مطابق نتایج به‌دست آمده، ترکیبات فعال زیستی فنلی، دامنه گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی از جمله ممانعت از بروز حساسیت و التهاب، محافظت از قلب و گشادکننده عروق، پیشگیری از بسیاری از بیماری‌های مزمن و خواص ضداکسایشی و ضدمیکروبی را نشان می‌دهند (Balasundram *et al*., 2006; Dai and Mumper, 2010; Wu *et al*., 2004). ضداکسایش‌ها که سبب پیشگیری یا مهار فرایندهای اکسیداسیون در بدن انسان و محصولات غذایی می‌شوند در دو گروه سنتزی و طبیعی قرار دارند. اما از آن جایی که مواد سنتزی می‌توانند عامل بروز بسیاری از سرطان‌ها و بیماری‌ها باشند، به استفاده از انواع مختلف طبیعی توجه بیشتری شده است (Babbar *et al*., 2011).

در پژوهشی آیری و همکاران (2012) ترکیبات فعال زیستی از جمله میزان آنتوسیانین کل، میزان کومارین و اسید فنولیک در میوه، هسته و لیکور حاصل از میوه آلبالو تلخه را اندازه‌گیری و شناسایی

---

1 و2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان.
(* - نویسنده مسئول: Email: zaringhalami@znu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.56800

کردند. نتایج نشان داد که در بافت تازه میوه آلبالو تلخه سه ترکیب اصلی از ترکیبات فنلی از جمله مشتقات اسید فنولیک (O-کوماریک اسید گلوکوزید)، گلیکوزیدهای کوئرستین و آنتوسیانین‌ها (سیانیدین ۵،۳-دیگلوکوزید، سیانیدین3-سامبوبیوسید، سیانیدین3-ایکسلوسیل-روتینوزید و سیانیدین3-روتینوزید) وجود دارد. همچنین ترکیبات کومارین شناسایی شده در بخش هسته به نسبت بیشتری (0/87 میلی‌گرم در گرم نمونه) نسبت به بافت میوه (0/63 میلی‌گرم در گرم نمونه) گزارش شد. به علاوه میزان فلاونوئید در پوست و پالپ 0/55 میلی‌گرم در گرم تعیین شد. در لیکور میوه آلبالو تلخه نیز میزان آنتوسیانین 16/5 درصد، اسیدهای فنولیک 43/3 درصد، کومارین 36/2 درصد و فلاونوئید 4 درصد از کل ترکیبات گزارش گردید (Ieri *et al.*, 2012).

در مطالعه‌ای مورنو-مونتورو و همکاران (2015) میزان فنل کل در آب انگور قرمز، آب پرتقال، آب سیب، آب آناناس، آب گریپ‌فروت، آب انار، آب توت‌فرنگی را بررسی کردند. بیش‌ترین ترکیبات فنل در آب توت فرنگی و آب انگور قرمز مشاهده شد. همچنین میزان آنتوسیانین و فلاونوئید در آب انگور قرمز به‌ترتیب 285 و 98 میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند. آنها همچنین بیان کردند بین میزان فنل کل و فعالیت ضداکسایشی رابطه مثبت معنی‌داری وجود دارد (Moreno-Montoro *et al.*, 2015).

در پژوهشی دیگر پرتوزاتی و همکاران در سال 2014 عصاره هیدروفیل و لیپوفیل 10 رقم زغال‌اخته را به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که زغال‌اخته دارای میزان بالایی از فنل کل، آنتوسیانین کل و منبع خوبی از کاروتنوئید است و بین مقدار این ترکیبات و فعالیت ضداکسایشی رابطه مستقیم وجود دارد. به علاوه عصاره هیدروفیل نسبت به عصاره لیپوفیل بیشترین فعالیت ضداکسایشی را نشان می‌دهد (Pertuzatti *et al.*, 2014).

علاوه بر تمایل به استاده از ترکیبات ضداکسایشی طبیعی، با توجه به ویژگی ضدمیکروبی بیشتر ترکیبات فعال زیستی و خواسته‌های مصرف‌کنندگان برای دریافت مواد غذایی ایمن و طبیعی، تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از مواد ضدمیکروبی طبیعی نیز تمایل بیشتری پیدا کرده‌اند. بیشتر ترکیبات فنلی استخراج شده از گیاهان، به دلیل دارا بودن خواص ضدمیکروبی، یکی از این موارد محسوب می‌گردند (Kołodziejczyk *et al.*, 2013).

طی پژوهشی لاکومبی و همکاران (2012) ثابت کردند که زغال‌اخته دارای ترکیباتی مانند فنل‌های مونومریک، پروآنتوسیانیدین و آنتوسیانیدین می‌باشد. همچنین اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی در غلظت‌های 2 تا 4 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه برخی از باکتری‌های بیماریزا از جمله اشریشیاکلی را به دلیل حضور این ترکیبات عنوان کردند (Lacombe *et al.*, 2012).

در پژوهش Chitsaz (2006) اثرات ضدمیکروبی عصاره الکلی گیاه زرشک را به دلیل دارا بودن ترکیبات فراوان فنلی و آلکالوئیدی گزارش شده است. این در حالی است که از عصاره آبی و جوشانده این گیاه هیچ نوع فعالیت ضدمیکروبی گزارش نشده است.

با توجه به اینکه میوه آلبالو تلخه، به رنگ آبی-بنفش است و در مناطق مختلفی از کشور ما به‌ویژه غرب ایران، به وفور یافت می‌شود و سرشار از آنتوسیانین‌های مفید برای سلامتی است و این که درخت مذکور در ایران فقط به‌عنوان پیوند پایه گیلاس مورد استفاده قرار می‌گیرد و از میوه‌های آن در صنایع غذایی هیچ‌گونه استفاده‌ای نمی‌شود، لذا هدف از این پژوهش ارزیابی میزان فنل کل و بررسی ویژگی‌های ضداکسایشی و ضدمیکروبی این میوه مفید جهت استفاده در صنعت غذا بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های آلبالو تلخه از 5 درخت انتخاب شده در دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان به‌صورت کاملا تصادفی جمع‌آوری گردید و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از تمیز کردن و شست و شو، میوه‌ها تا قبل از انجام آزمون‌های بعدی، در فریزر و در دمای 18- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

نمونه‌ها جهت یخ‌زدایی در دمای محیط قرار داده شد و سپس هسته‌های آن‌ها به‌صورت دستی جدا گردید. به‌منظور تهیه آب آلبالو تلخه، میوه‌ها با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن خانگی (GSC -911 ، چین) کاملا همگن شد و به‌منظور جداسازی پالپ، نمونه همگن شده با استفاده از صافی پارچه‌ای صاف گردید. آب آلبالو تلخه آماده شده، به‌منظور بررسی ویژگی‌های مختلف کیفی مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی ترکیبات فعال زیستی

اندازه‌گیری ویتامین ث

میزان ویتامین ث به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. در این روش ابتدا 12/5 میلی‌لیتر از آب آلبالو را به 50 میلی‌لیتر پتاسیم‌دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) 10 میلی‌مولار اضافه شد و پس از 10 ثانیه هم‌زدن، 0/5 میلی‌لیتر از محلول با استفاده از پتاسیم‌دی هیدروژن فسفات به حجم 5 میلی‌لیتر رسانده شد. سپس جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SPECORD 250 UV/ VIS، آلمان) در طول موج 265 نانومتر خوانده شد. از اسید آسکوربیک خالص برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید. منحنی جذب در برابر غلظت اسید آسکوربیک برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسم شد و با استفاده از معادله رگرسیون، میزان ویتامین ث نمونه بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسیدآسکوربیک تعیین شد (Uggla *et al.*, 2003).

اندازه‌گیری فنل کل (TPC)

میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتیو[1] انـدازه‌گیـری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در میلی‌لیتر آب آلبالو تلخه بیان شد. اساس این روش که از متداول‌ترین روش‌های انـدازه‌گیـری ترکیبات فنلی می‌باشد، احیاء معرف فولین توسط ترکیبـات فنلـی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج 765 نانومتر نشان می‌دهد. در این روش به 250 میکرولیتر از آب آلبالو تلخه 20 برابر رقیق شده با آب، یـک میلـی‌لیتـر معـرف فولین‌سیوکالتو که به نسبت 1 به 10 با آب مقطـر رقیـق شـده بـود، اضافه شد. بعد از پنج دقیقه، دو میلی‌لیتر سدیم کربنات 20 درصد به آن اضافه و کاملا مخلوط شد. پس از 30 دقیقه نگهـداری در دمـای محیط، جذب نمونه توسـط دسـتگاه اسـپکتروفتومتر در 765 نـانومتر خوانده شد. پس از رسم منحنی استاندارد اسید گالیک، بـا قـرار دادن مقدار جذب نمونه در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقـدار فنل کل موجود آب آلبالو تلخه محاسبه شـد. در نهایـت، داده‌هـا بـر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر آب میوه بیان گردیـد (Sharma *et al*. 2015).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل (TFC)

میزان فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید تعیین شد. در این روش یک میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده، با چهار میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس به آن 0/3 میلی‌لیتـر سـدیم نیتریـت 5 درصد و 0/3 میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید 10 درصد به همراه 2 میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید یک مـولار اضـافه شـد. بعـد از 5 دقیقـه بـا 2/4 میلی‌لیتر آب مقطر کاملا مخلوط شد و سـپس جـذب نمونـه در 510 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان فلاونوئید کل با استفاده ازمعادله منحنی استاندارد و بر اساس میلی‌گـرم روتـین بـر میلی‌لیتر آب آلبالو گزارش شد (Floegel *et al*., 2011).

اندازه‌گیری آنتوسیانین کل

محتوای آنتوسـیانین کـل بـه روش Khoo و همکـاران (2011) انجام گرفت. مطابق این روش، ابتدا 0/1 گرم از آب آلبالو وزن شـد و با 10 میلی‌لیتـر متـانول اسـیدی (بـه نسـبت یـک میلـی‌لیتـر اسـید کلریدریک یک نرمال و 99 میلی‌لیتر متانول خالص) کـاملا مخلـوط گردید. نمونه آماده شده به مـدت 24 سـاعت در محـل تاریـک و در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس جذب نمونه بـه وسـیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 550 نـانومتر انـدازه‌گیـری شـد. مقدار آنتوسیانین کل طبق فرمول زیر بر حسب مول بر گرم محاسبه شد:

$$A = \varepsilon \times B \times C \qquad (1)$$

A: مقدار جذب

ε: ضریب خاموشی معادل 33000 مول بر سانتی‌متر

B: عرض سل برابر یک سانتی‌متر

C: مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم.

ارزیابی فعالیت ضداکسایشی

روش پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

توانایی مهارکنندگی پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Ruch و همکـاران (1989) مشـخص شـد. ابتـدا یـک محلـول از پراکسـید هیدروژن 40 میلی‌مولار در بافر فسـفات (50 میلـی‌مـولار و pH=7) تهیه شد. سپس غلظت پراکسید هیـدروژن از طریـق جـذب محلـول آماده شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طـول مـوج 230 نـانومتر مشخص گردید. سپس 20 میکرولیتر از نمونه رقیق شـده بـا آب بـه محلول پراکسید هیدروژن اضافه گردید و بعد از 10 دقیقه جذب آن در طول موج 230 نانومتر در مقابل محلول بافر فسفات بدون پراکسـید هیدروژن (نمونه شاهد) خوانـده شـد. درصـد مهارکننـدگی پراکسـید هیدروژن با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

درصد مهارکنندگی هیدروژن پراکسید= $\{(A_i - A_t)/A_i\} \times 100$ (2)

A_i: جذب نمونه شاهد

A_t: جذب نمونه مورد آزمایش

روش مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

در این آزمون مطابق روش Sharma و همکـاران (2015)، 100 میکرولیتر از نمونه (20 برابر توسط آب مقطر رقیـق شـده اسـت) بـه علاوه 3/9 میلی‌لیتـر از محلـول 6×10^{-5} مـولار ۲،۲-دی فنیـل 1- پیکریل هیدرازیل متانولی مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به مـدت 30 دقیقه در دمای 25 درجه سلسیوس در جای تاریک نگهـداری شـدند. سپس جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طـول مـوج 520 نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس فعالیت ضداکسایشی بر مبنـای درصـد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد مهار رادیکال‌های DPPH : $\{(A_{blank} - A_{sample})/A_{blank}\} \times 100$ (3)

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری نمونه شـاهد (فاقـد آب آلبالو) و A_{sample} بیانگر جذب نوری نمونه مورد آزمایش می‌باشد (*et al*. 2015).

1 Folin–Ciocalteu

بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی

آماده‌سازی میکروارگانیسم‌ها

به‌منظور تهیه میکروارگانیسم‌های فعال، سویه‌های استاندارد میکروبی *اشریشیاکلی* گرم منفی (PTCC 1338)، *استافیلوکوکوس اورئوس* گرم مثبت (PTCC 1112)، *آسپرژیلوس فلاووس* (PTCC 5004) و *پنی سیلیوم کرایسوژنوم* (PTCC 5037) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، بخش کلکسیون میکروبی به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. آمپول حاوی میکروارگانیسم‌ها در شرایط کاملا استریل شکسته و سپس به مقدار 0/5 میلی‌لیتر از محیط کشت نوترینت براث به داخل آمپول‌ها تزریق شد. سپس توسط پیپت پاستور از ترکیبات سوسپانسیون باکتری‌ها و کپک‌ها به محیط کشت‌های مایع و جامد که از قبل آماده شده بود تلقیح گردید و باکتری‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس و کپک‌ها به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند.

آزمون بررسی فعالیت ضدمیکروبی به روش ایجاد چاهک

ابتدا میکروارگانیسم‌های مورد نظر، به نرمال سالین استریل منتقل شدند تا کدورت آن‌ها با استاندارد 0/5 مک فارلند معادل CFU/ml $1/5\times10^8$ میکروارگانیسم، برابر شد. سپس رقت‌های 10^4 و 10^2 میکروارگانیسم از محلول استاندارد تهیه شد تا این که خواص ضدمیکروبی نمونه نسبت به میکروارگانیسم‌ها در رقت‌های مختلف سنجیده شود. توسط سواپ استریل از میکروارگانیسم‌ها برداشته شد و روی محیط کشت، به صورت خطی توسط میله‌های شیشه‌ای L مانند در سطح پتری‌دیش کشت داده شد. توسط خلا و پیپت پاستور استریل، چاهک‌هایی به قطر 6 میلی‌متر روی محیط کشت ایجاد گردید. سپس انتهای چاهک‌ها با 10 میکرولیتر محیط کشت پر شد تا از نفوذ احتمالی آب آلبالو تلخه به کف محیط و از بروز هر گونه خطا پیشگیری شود. سپس 50 میکرولیتر از آب آلبالو تلخه (توسط صافی 0/2 میکرون صاف شد) در چاهک‌ها ریخته شد و در هر ظرف کشت یک چاهک به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس پلیت‌های کشت شده در حرارت 37 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت برای باکتری‌ها و 48 ساعت برای قارچها، گرمخانه‌گذاری شدند و قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از خط‌کش و از پشت پتری‌دیش‌ها اندازه‌گیری شد. جهت مقایسه قطر هاله‌ها، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج اریترومایسین و آمیکاسین استفاده شد و قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌ها در مورد هر میکروارگانیسم مشخص گردید. نمونه‌ای که قطر هاله عدم رشد در آن تشکیل گردید جهت آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی[2] (MIC) و حداقل غلظت کشندگی[3] (MBC) مورد بررسی قرار گرفت (Metrouh-Amir *et al*., 2015).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی آب آلبالو تلخه به روش ماکرودایلوشن[4] (رقیق‌سازی در لوله ازمایش) در محیط کشت استفاده شد. برای این منظور 4 عدد لوله آزمایش حاوی 4 میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث استریل در نظر گرفته شد. غلظت‌های مختلف از آب آلبالو تلخه در آب مقطر استریل به میزان 1، 0/9، 0/8 و 0/7 درصد حجمی-حجمی تهیه شد. سپس به هر کدام از لوله‌های آزمایش یک میلی‌لیتر نمونه با غلظت‌های آماده شده اضافه گردید. به تمامی لوله‌های آزمایش یک میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری مورد نظر به میزان (10^2 CFU/ml) تلقیح گردید. یک لوله آزمایش حاوی محیط کشت به‌عنوان کنترل منفی، یک لوله آزمایش حاوی محیط کشت و باکتری جهت کنترل مثبت و یک لوله آزمایش نیز حاوی محیط کشت و آب آلبالو (شاهد سنجش کدورت) تهیه گردید. تمامی لوله‌های آزمایش به مدت 24 ساعت در گرمخانه 37 درجه سلسیوس قرار داده شده و پس از طی این مدت، لوله‌های آزمایش از نظر کدورت حاصل از فعالیت و رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای لوله‌ای در نظر گرفته شد که حاوی کمترین غلظت آبمیوه باشد و کدورت حاصل از رشد میکروارگانیسم در آن ایجاد نشده باشد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری از لوله‌های آزمایشی که در آن‌ها کدورت دیده نشد روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. کمترین غلظتی که هیچ رشدی از باکتری در آن مشاهده نشده باشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته می‌شود (Soltani *et al*., 2013).

نتایج و بحث

میزان فنل کل

میزان فنل کل آب آلبالو تلخه 0/06 ± 303 میلی‌گرم گالیک اسید در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین شد که در مقایسه با سایر میوه‌های رنگی مشابه، در سطح پایین‌تری قرار گرفته است (جدول 1). تحقیقات مختلفی در زمینه بررسی و تعیین ویژگی ترکیبات موثره

---

1 Minimum Concentration Inhibitory

2 Minimum Bactericidal Concentration

3 Macrobroth dilution

میوه‌های رنگی مشابه با آلبالو تلخه انجام گرفته است. در پژوهشی Khoo و همکاران (2011) میزان فنل کل 34 رقم مختلف آلبالو را بین 754-74 میلی‌گرم اسیدگالیک در 100 گرم نمونه گزارش کردند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر میزان فنل کل آب آلبالو تلخه نیز در این دامنه قرار دارد و حتی نسبت به بعضی از رقم‌های آلبالو در سطح بالاتری قرار می‌گیرد (Khoo *et al*., 2011). تفاوت‌های زیادی بین میزان فنل کل میوه‌ها و سبزی‌های مختلف و یا حتی بین میوه‌ها و سبزی‌های مشابه گزارش شده است. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل ویژگی‌های ژنتیکی از جمله جنس، گونه و رقم، عوامل محیطی نظیر شرایط کشت، حمل و نقل و نگهداری و شرایط و روش‌های مختلف استخراج باشد (D’Abrosca *et al*., 2007; Fang *et al*., 2008; Sun *et al*., 2002).

میزان فلاونوئید کل

همانطور که در جدول 1 آمده است، میزان فلاونوئید کل آب آلبالو تلخه 0/01 ± 17 میلی‌گرم روتین در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین گردید که این مقدار در مقایسه با نتایج سایر محققین در زمینه اندازه‌گیری میزان فلاونوئید میوه‌های رنگی از جمله تمشک قرمز در سطح بالاتر و نسبت به دیگر میوه‌های رنگی در سطح پایین‌تری قرار دارد (Samec and Zegarac., 2011; Chen *et al*., 2013; Pantelidis *et al*., 2007; You *et al*., 2011; Serradilla *et al*., 2012). همانند میزان فنل کل عوامل متعددی بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی میوه‌ها موثر است که از آن جمله می‌توان به رقم و منطقه رشد گیاه اشاره کرد. با این حال این عوامل به تنهایی اطلاعات کافی از تغییر سطح فلاونوئیدها در طی سال‌های مختلف و تحت تغییرات سالانه آب و هوا را نشان نمی‌دهد. بنابراین فصل رشد، شرایط حاکم زیست محیطی و زمان برداشت محصول نیز می‌تواند بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی موثر باشد (Wang *et al*., 2009). همچنین شرایط نگهداری محصول از زمان برداشت تا انجام آزمایش، فاکتور بسیار مهمی در این زمینه محسوب می‌شود. نتایج پژوهش دوشی و ادسول (2008) نشان می‌دهد که در طی نگهداری، میزان ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می‌یابد. این امر به دلیل آزاد شدن ترکیبات فلاونوئیدی از طریق اتصال پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها به ترکیبات فلاونوئیدی و خروج آنها از شکل کمپلکس موجود در بافت میوه گزارش شده است (Doshi and Adsule, 2008).

از طرفی میزان ترکیبات فلاونوئیدی در قسمت پوست، گوشت و آب میوه متفاوت است. به طوری که در پژوهشی آیری و همکاران (2012) میزان فلاونوئید کل در پوست و گوشت آلبالو تلخه کشور ایتالیا را به میزان 55 میلی‌گرم در 100 گرم گزارش کردند که نسبت به آب میوه آلبالو تلخه مورد بررسی در این پژوهش، در سطح بالاتری قرار دارد (Ieri *et al*., 2012). البته این تفاوت می‌تواند به دلیل اختلاف در گونه و شرایط آب و هوایی منطقه کشت این میوه نیز باشد. در پژوهشی مشابه ابروسکا و همکاران (2008) میزان ترکیبات فلاونوئیدی در پوست و گوشت سیب را به ترتیب 47/8 و 16/0میلی‌گرم در 100 گرم گزارش کردند. بنابراین پوست میوه در مقایسه با سایر قسمت‌های میوه غنی‌ترین منبع ترکیبات فلاونوئیدی است (D’Abrosca *et al*., 2007). در مقایسه‌ای بین میزان فلاونوئید کل آب آلبالو تلخه نسبت به سایر نوشیدنی‌ها از جمله آب میوه رایج انگور قرمز مشاهده می‌شود که میزان فلاونوئید آب انگور قرمز به میزان 9/8 میلی‌گرم بر 100 میلی‌لیتر در سطح پایین‌تری نسبت به آب آلبالو تلخه قرار دارد (Montoro *et al*., 2015). مطابق با نتایج این پژوهش و نتایج سایر محققین مشخص شد علاوه بر پوست و گوشت میوه آلبالو تلخه، آب میوه منبع غنی از ترکیبات فلاونوئیدی است.

میزان آنتوسیانین کل

مطابق با جدول 1 میزان آنتوسیانین کل آب آلبالو تلخه 871/63±0/93 میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه تعیین شد که در مقایسه با سایر میوه‌های رنگی حاوی آنتوسیانین گزارش شده توسط سایر محققین، در سطح بسیار بالایی قرار دارد. در پژوهشی Kim و همکاران (2005) میزان آنتوسیانین کل در ارقام مختلف میوه آلبالو تازه را 45 تا 109 میلی‌گرم سیانیدین 3 گلیکوزید در 100 گرم نمونه گزارش کردند و علت تفاوت در میزان آنتوسیانین را نوع رقم عنوان کردند. Khoo و همکاران (2011) محتوای آنتوسیانین کل آلبالو را در محدوده 285-21 میلی‌گرم مالویدین در 100 گرم نمونه گزارش کردند و بر این باورند که منطقه کشت و زمان برداشت محصول بر میزان آنتوسیانین میوه‌ها موثر است. همچنین بیان کردند رقم‌های تیره رنگ آلبالو در سطح بالاتری از فنل و آنتوسیانین کل قرار دارند. همچنین شرایط نگهداری آبمیوه‌ها و میوه‌ها در طول انبارداری برای حفظ ترکیبات آنتوسیانین بسیار مهم است، زیرا آنتوسیانین به دما و نور بسیار حساس می‌باشد و واکنش‌های اکسیداتیو، در نتیجه عمل آنزیم و حضور دیگر ترکیبات فنلی منجر به تخریب آنتوسیانین‌ها می‌شود. در نتیجه شرایط بهینه دما و زمان نگهداری محصول باید در نظر گرفته شود (Reque *et al*., 2014). نتیجه پژوهش حاضر حاکی از آن است که میزان آنتوسیانین در آب آلبالو تلخه در مقایسه با سایر ارقام آلبالو و میوه‌های رنگی، به دلیل رنگ قرمز تیره‌تر تقریبا 15 برابر بیشتر است که رقم قابل توجهی می‌باشد و نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای و سلامت‌بخش بالای این میوه است.

میزان ویتامین ث

میزان ویتامین ث در آلبالو تلخه 39/26 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد (جدول 1). سایر محققین میزان ویتامین ث میوه‌های رنگی را در دامنه 52/41 تا 92/17 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر به‌ترتیب در توت سیاه و تمشک قرمز گزارش کرده‌اند. تفاوت در مقدار ویتامین ث در میوه‌های مختلف به عوامل متعددی بستگی دارد. عوامل محیطی مانند اکسیژن و حرارت موجب تخریب ویتامین ث می‌شوند. عوامل ژنتیکی و عوامل زیست محیطی، به‌طور مستقیم بر ژن گیاه تاثیر گذاشته و تولید ویتامین ث را تغییر می‌دهند (de Souza *et al*., 2014). Ramful و همکاران (2011) میزان ویتامین ث میوه‌ها در سه سطح پایین (کمتر از 30 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر)، متوسط (بین 50-30 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر) و بالا (بیش از 50 میلی‌گرم در 100 میلی‌لیتر) تقسیم‌بندی کردند. با توجه به این طبقه‌بندی، میزان ویتامین ث آلبالو تلخه در سطح متوسط قرار دارد.

جدول 1-میزان ترکیبات فعال زیستی آب آلبالو تلخه در مقایسه با سایر میوه‌های رنگی

پارامترها / نمونه	**فنل کل** (میلی‌گرم اسیدگالیک در 100 میلی‌لیتر آب میوه)	**فلاونوئید کل** (میلی‌گرم روتین در 100 میلی‌لیتر آب میوه)	**آنتوسیانین کل** (میلی‌گرم سیانیدین در100 میلی‌لیتر آب میوه)	**ویتامین ث** (میلی‌گرم در 100میلی‌لیتر آب میوه)	منابع
آب آلبالو تلخه	303/00±0/06	17/00±0/01	871/63±0/93	39/26±0/01	
توت سیاه	850/52±4/77	87/03±4/85	58/61±2/19	52/41±11/31	Samec and Zegarac (2011)
تمشک قرمز	357/83±7/06	9/61±2/15	14/69±2/03	92/17±10/11	Chen *et al* (2013)
توت فرنگی	621/92±15/51	38/17±2/76	16/03±0/50	90/13±2/24	Pantelidis *et al.* (2007)
زغال اخته	305/38±5/09	47/53±2/40	29/72±4/20	73/21±0/35	You *et al.* (2011)
گیلاس	314/45±5/95	59/92±3/76	26/72±3/22	62/42±7/69	Serradilla *et al.* (2012)

فعالیت ضداکسایشی

میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و H_2O_2 توسط آب آلبالو تلخه به‌ترتیب 72/3± 0/81 درصد و 6/33± 0/68 درصد تعیین شد. بررسی‌ها نشان داده است که ترکیبات فعال زیستی از جمله ویتامین ث و ترکیبات فنلی که به‌طور گسترده در بسیاری از گیاهان یافت می‌شوند، توانایی بالایی در مهار رادیکال‌های آزاد دارند. ویتامین ث یا اسید آسکوربیک از مهم‌ترین ترکیبات ضداکسایشی میوه‌ها به‌خصوص در مرکبات شناخته شده است. اسید آسکوربیک از طریق واکنش با اکسیژن و تولید دهیدروآسکوربیک اسید قادر به ایجاد سیستم اکسایش-کاهش جهت تخریب رادیکال‌های آزاد است. طبق پژوهش سوزا و همکاران (2014) رابطه مستقیمی بین ویتامین ث و فعالیت ضداکسایشی در میوه‌های گیلاس، زغال اخته، توت فرنگی و دیگر میوه‌های رنگی وجود دارد (de Souza *et al*., 2014).

فعالیت ضداکسایشی ترکیبات فنلی بستگی به ساختار، به‌ویژه تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل در حلقه‌های آروماتیک دارد. طی پژوهشی لاروز و همکاران (2010) فعالیت ضداکسایشی تفاله زغال اخته، قره قاط و تمشک را بررسی کردند. نتایج حاکی از آن است انواع توت‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی بالا توانایی بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارند. دلیل این امر را افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش عنوان کردند که در نتیجه آن احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و قدرت مهارکنندگی آب میوه افزایش می‌یابد (Laroze *et al*., 2010). علاوه بر ساختار ترکیبات فنلی، میزان و نوع ترکیبات فنلی در میوه‌های رنگی مختلف، بر فعالیت ضداکسایشی موثر است. در تحقیقی سوکولی تووسکا و همکاران (2014) به مقایسه میزان ترکیبات فنل کل و آنتوسیانین کل و همچنین فعالیت ضداکسایشی نوشیدنی‌های تولید شده از 10 نوع میوه قرمز رنگ از جمله زغال اخته، انگور سیاه، توت سیاه، تمشک، آلوچه، توت فرنگی، آلبالو و غیره پرداختند. نتایج نشان داد که این میوه‌ها منبع مناسبی از ترکیبات فنلی بوده و فعالیت ضداکسایشی بالایی دارند. بنابراین استفاده از آنها جهت تولید نوشیدنی سنتی می‌تواند بسیار ارزشمند باشد (Sokol-Letowska *et al*. 2014). همچنین پژوهشی در جهت تاثیر نوع ترکیبات فنلی و میزان آنتوسیانین بر فعالیت ضداکسایشی یازده نوع آب آلبالو به‌دست آمده از واریته‌های مختلف، توسط دامار و ایکسای در سال 2012 انجام گرفت. نتایج نشان داد که آب آلبالو واریته ترکیه بیشترین میزان آنتوسیانین (633/5-350 میلی‌گرم بر لیتر) را داراست. همچنین بیان کردند آب آلبالو ماده ضداکسایش قوی می‌باشد که این امر عمدتا به دلیل حضور ترکیبات پلی‌فنلی از جمله ملاتونین[5] موجود در آن است. اما ترکیبات آنتوسیانین مانند سیانیدین-3-روتینوزید هم تا حدودی بر فعالیت ضداکسایشی موثر هستند (Damar and

1 Melatonin

Eksi., 2012). طبق پژوهش آیری و همکاران (2012) ترکیب سیانیدین-3-روتینوزید در میوه آلبالو تلخه هم شناسایی شده است که مطابق با نتایج پژوهش قبلی می‌تواند فعالیت ضداکسایشی آلبالو تلخه را تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این بررسی و مقایسه آن با سایر پژوهش‌های انجام شده می‌توان آب آلبالو تلخه را به عنوان منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی و همچنین به‌عنوان یک ضداکسایش طبیعی و قوی معرفی کرد.

ارزیابی خواص ضدمیکروبی

بررسی قطر هاله عدم رشد

مطابق جدول (2) قطر هاله عدم رشد باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس‌اورئوس* در غلظت یک درصد از عصاره به‌ترتیب 23/12±0/1 و 25/20±0/1 میلی‌متر مشخص شد که نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین در سطح بالاتری قرار داشت. دلیل این امر می‌تواند تاثیر ترکیبات فنلی، ساپونین، تانن و فلاونوئیدهای موجود، بر غشای پلاسمایی و سلولی میکروارگانیسم‌ها و یا مهار آنزیم‌های ساختاری غشای سلولی آنها باشد (Soltani *et al*., 2013). همچنین در مطالعه‌ای پرومالا و هتیاراچی (2011) خواص ضدمیکروبی ترکیبات فنلی را واکنش گروه سولفیدریل پروتئین‌ها و غیرفعال کردن کارایی ترکیبات موجود در میکروارگانیسم‌ها گزارش کردند (Perumalla & Hettiarachchy., 2011). این در حالی است که این هاله در قارچ‌های *آسپرژیلوس‌فلاووس* و *پنی‌سیلیوم کرایسوژنوم* اصلا مشاهده نشد. با توجه به مقاومت بالای کونیدی‌های آسپرژیلوس‌ها و پنی‌سیلیوم‌ها نسبت به ترکیبات ضدقارچی این امر می‌تواند قابل توجیه باشد (Dehghan *et al*., 2014).

در تحقیقی که توسط کولودزی ایجکزیک و همکاران (2013) روی فعالیت ضداکسایشی و فعالیت ضدمیکروبی و ترکیبات پلی‌فنلی عصاره تفاله آلبالو انجام گرفت، مشخص شد که محتویات پلی‌فنلی شامل آنتوسیانین‌ها و هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها است که فعالیت ضداکسایشی بالایی را دارند. به علاوه بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره آلبالو بر باکتری‌های *سالمونلا*، *اشریشیا کلی* و *لیستریا* نشان داد که این عصاره می‌تواند موجب کاهش رشد *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* و مهار رشد *لیستریا* شود (Kołodziejczyk *et al*., 2013). علاوه بر ویژگی‌های ذکر شده، نتایج بررسی فعالیت ضدمیکروبی گیاهان مختلف توسط محققان نشان داده است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری دارند (Weerakkody *et al*. 2010). باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند. سطح هیدروفیلی این غشا غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکاریدی می‌باشد و به‌عنوان مانعی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. اما در برابر باکتری‌های گرم مثبت، مواد ضدمیکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده و منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند (Sandri *et al*., 2007). با توجه به موارد گفته شده علت بیشتر بودن قطر هاله عدم رشد باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* توجیه می‌شود. مشاهده می‌شود نتایج تحقیق حاضر تا حدودی با نتایج ارائه شده در برخی از مطالعات قبلی بر میوه‌های رنگی مطابقت دارد.

جدول 2- قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها بر حسب میلی‌متر در برابر غلظت‌های مختلف آب آلبالو و اریترومایسین

میکروارگانیسم (10^7CFU/ml)	آب آلبالو (1 درصد)	اریترومایسین
	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	
اشریشیاکلی	23/12±0/1	7/30±0/1
استافیلوکوکوس اورئوس	25/20±0/1	23/14±0/1
آسپرژیلوس فلاووس	-	
پنی‌سیلیوم کرایسوژنوم	-	

MIC و MBC

نتایج MIC یا کمترین غلظت مهارکنندگی و MBC یا کمترین غلظت کشندگی آب آلبالو تلخه در جدول (3) نشان داده شده است. مطابق با نتایج به‌دست آمده، MIC آب آلبالو تلخه علیه باکتری *اشریشیاکلی* معادل 0/9 درصد و علیه *استافیلوکوکوس‌اورئوس* معادل 0/8 درصد بود، اما اثر کشندگی برای هیچکدام از باکتری‌ها مشاهده نشد. MBC وMIC برای قارچ‌ها به علت عدم تشکیل هاله رشد بررسی نشده است. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد اثر ضدمیکروبی عصاره‌ها به‌طور عمده به میزان ترکیبات فنلی بستگی دارد، درحالی که ساختار دیواره سلولی و یا مکانیسم تولید هاگ میکروارگانیسم‌ها بر نتایج MIC تاثیر نمی‌گذارد (Demirdoven *et al*., 2015; Negi *et al*., 2003).

جدول 2- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی آب آلبالو تلخه بر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی

باکتری (10^2CFU/ml)	حداقل غلظت مهارکنندگی (درصد حجمی-حجمی)	حداقل غلظت کشندگی (درصد حجمی-حجمی)
اشریشیاکلی	0/9	-
استافیلوکوکوس اورئوس	0/8	-

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، مشخص شد که آب آلبالو تلخه از فعالیت ضداکسایشی و ضدمیکروبی بالایی برخوردار است که این امر ناشی از غنی بودن آب میوه از ترکیبات فنلی (303 میلی‌گرم اسید گالیک در100 میلی‌لیتر آب میوه)، فلاونوئیدی (0/17 میلی‌گرم روتین در میلی‌لیتر آب میوه)، آنتوسیانین (871/63 میلی‌گرم سیانیدین در 100 میلی‌لیتر آب میوه) و ویتامین ث (0/01 ± 39/26) است. همچنین مشخص شد که آب آلبالو تلخه اثرات ضدباکتریایی روی باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد. از این رو می‌توان از آلبالو تلخه در صنعت غذا به‌جای ضداکسایش‌های صنعتی و سایر نگهدارنده‌های شیمیایی و میکروبی استفاده نمود. این در حالی است که در بیشتر موارد طعم تلخ این میوه می‌تواند عاملی منفی در جهت استفاده مستقیم از آن باشد. بنابراین توصیه می‌شود که قبل از استفاده از این میوه مفید در صنعت، فرآیند تلخی‌زدایی روی آن انجام گیرد.

منابع

قارونی، ت.، زمانی، ذ.، بوذری، ن. 1391. تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های محلب (*Prunus mahaleb* L.) بر اساس صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای RAPD، مجله به نژادی نهال و بذر، 1-28: 739-717.

Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, *44*(1), 391-396.

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, *99*(1), 191-203.

Chen, L., Xin, X., Zhang, H., & Yuan, Q. (2013). Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. *Journal of Functional Foods*, *5*(1), 508-515.

Chitsaz, M. (2006). In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of Stachys schtschegleevii. *Daneshvar Medical Journal*, *14*, 1-8.

D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A. (2007). 'Limoncella'apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *104*(4), 1333-1337.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, *15*(10), 7313-7352.

Damar, İ., & Ekşi, A. (2012). Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food chemistry*, *135*(4), 2910-2914.

de Souza, V. R., Pereira, P. A. P., da Silva, T. L. T., de Oliveira Lima, L. C., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food chemistry*, *156*, 362-368.

Dehghan, G., Zarrini, G., & Hajizadeh, M. (2013). Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of Ferula szovitsiana. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, *15*(6), 10-17.

Demirdöven, A., Karabıyıklı, Ş., Tokatlı, K., & Öncül, N. (2015). Inhibitory effects of red cabbage and sour cherry pomace anthocyanin extracts on food borne pathogens and their antioxidant properties. *LWT-Food Science and Technology*, *63*(1), 8-13.

Doshi, P. J., & Adsule, P. G. (2006, February). Effect of storage on physicochemical parameters, phenolic compounds and antioxidant activity in grapes. In *International Symposium on Grape Production and Processing 785* (pp. 447-456).

Fang, F., Li, J. M., Zhang, P., Tang, K., Wang, W., Pan, Q. H., & Huang, W. D. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. *Food Research International*, *41*(1), 53-60.

Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, *24*(7), 1043-1048.

Ieri, F., Pinelli, P., & Romani, A. (2012). Simultaneous determination of anthocyanins, coumarins and phenolic acids in

fruits, kernels and liqueur of Prunus mahaleb L. *Food chemistry*, *135*(4), 2157-2162.

Khoo, G. M., Clausen, M. R., Pedersen, B. H., & Larsen, E. (2011). Bioactivity and total phenolic content of 34 sour cherry cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(6), 772-776.

Kołodziejczyk, K., Sójka, M., Abadias, M., Viñas, I., Guyot, S., & Baron, A. (2013). Polyphenol composition, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of the extracts obtained from industrial sour cherry pomace.*Industrial Crops and Products*, *51*, 279-288.

Lacombe, A., Wu, V. C., White, J., Tadepalli, S., & Andre, E. E. (2012). The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic Lactobacillus rhamnosus. *Food microbiology*, *30*(1), 124-131.

Laroze, L. E., Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Zúñiga, M. E., & Domínguez, H. (2010). Extraction of antioxidants from several berries pressing wastes using conventional and supercritical solvents. *European Food Research and Technology*, *231*(5), 669-677.

Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., & Ismail, N. (2010). Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. *Food Chemistry*, *118*(1), 120-127.

Metrouh-Amir, H., Duarte, C., & Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of Matricaria pubescens. *Industrial Crops and Products*, 67, 249–256.

Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., Navarro-Alarcon, M., & Rufián-

Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B. S. (2003). Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food chemistry*, *80*(3), 393-397.

Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., & Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, *102*(3), 777-783.

Pertuzatti, P. B., Barcia, M. T., Rodrigues, D., da Cruz, P. N., Hermosín-Gutiérrez, I., Smith, R., & Godoy, H. T. (2014). Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food chemistry*, *164*, 81-88.

Perumalla, A. V. S., & Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, *44*(4), 827-839.

Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., & Bahorun, T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, *44*(7), 2088-2099.

Reque, P. M., Steffens, R. S., Jablonski, A., Flôres, S. H., Rios, A. D. O., & de Jong, E. V. (2014). Cold storage of blueberry (Vaccinium spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, *33*(1), 111-116.

Ruch, R. J., Cheng, SJ., & Klainig JE. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen* 10, 1003-1008.

Samec, D., & Piljac-Zegarac, J. (2011). Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures Comparison with blackberries, white and red grapes. *Scientia horticulturae*, *131*, 15-21.

Sandri, I. G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A. P. L., & Echeverrigaray, S. (2007). Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus Cunila against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food chemistry*, *103*(3), 823-828.

Serradilla, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., López-Corrales, M., & de Guía Cordoba, M. (2012). Physicochemical and sensorial characterisation of four sweet cherry cultivars grown in Jerte Valley (Spain).*Food Chemistry*, *133*(4), 1551-1559.

Sharma, S., Kori, S., & Parmar, A. (2015). Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices. *Food chemistry*, *185*, 284-288.

Sokol-Letowska, A., Kucharska, A. Z., Wińska, K., Szumny, A., Nawirska-Olszańska, A., Mizgier, P., & Wyspiańska, D. (2014). Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs. *Food chemistry*, *157*, 533-539.

Soltani, M., Ghodratnama, M., Taheri Mirghaed, A., Zargar, A., & Rooholahi, Sh. (2013).The effect of Zataria multiflora Boiss and Rosmarinus officinalis essential oil on Streptococcus iniae isolated from Rainbow trout farms. *Journal of Veterinary Microbiology*, 9(1), 1-11.

Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(25), 7449-7454.

Uggla, M., Goa, X., and Werlemark, G. 2003. Variation among and within dog rose taxa (*Rosa sect. canina*) in fruit weight, percentage of fruit flesh and dry matter, and vitamin C content. Acta Agriculturae Scandivinavica Section B. *Soil and Plant Science*, 53, 147-155.

Wang, S. Y., Chen, C. T., & Wang, C. Y. (2009). The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. *Food Chemistry*, *112*(3), 676-684.

Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S., & Dykes, G. A. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized

spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, *21*(10), 1408-1414.

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of agricultural and food chemistry*, *52*(12), 4026-4037.

You, Q., Wang, B., Chen, F., Huang, Z., Wang, X., & Luo, P. G. (2011). Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. *Food Chemistry*, *125*(1), 201-208.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 1, Apr. May. 2018, p. 81- 92

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 1، فروردین-اردیبهشت 1397 ص.92-81

Evaluation of Bioactive Compounds of *White mahaleb* Juice

F. Bazrafkan[1], S. Zaringhalami*[2], A. Ganjloo[2]

Received: 2016.06.15
Accepted: 2017.04.22

Introduction: In recent years special attention has been paid to the use of natural sources contain healthy bioactive compounds. Fruit and vegetable juices are a good source of many biologically active compounds, particularly vitamins, minerals and phenols. Phenolic compounds are secondary metabolites widely found in fruits, mostly represented by flavonoids and phenolic acids. Phenols are known for their antioxidant, anticancer and cardio-protective properties among bioactive compounds. The health benefits of these phytochemicals are directly linked to a regular intake and their bioavailability. Berries with dark blue or red colors have the highest bioactive compounds and antioxidant capacities among all common fruits and vegetables. Anthocyanins which are one of the largest and most important group of water-soluble pigments in most species in the plant kingdom are largely responsible for diverse pigmentation from orange to red, purple and blue fruits, such as: blackberry, red and black raspberries, blueberries, bilberries. White mahlab (*Prunus mahaleb* L.) fruits with a dark red color, which known also as English cherry, Rock cherry, St. Lucie cherry, of the *Rosaceae* family, subfamily Prunoidae, is a deciduous tree with 1–2 m high. Mahaleb cherry tree which grows abundantly in West Asia such as in Iran used just as basic link for cherry trees because of bitter taste of their fruits. In order to reduce the bitterness and improve the taste of mahaleb juice, a debittering process is considered as an effective solution to overcome the commercial application problem. Several debittering techniques have been used to reduce the content of bitter compounds, such as biodegradation by enzymes, addition of bitterness suppressing agents, ultrafiltration.

Material and Methods: All chemicals used were analytical grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and Sigma-Aldrich (St. Louis, MO. USA).

Selected microorganisms including *Staphylococcus aureus* (PTCC: 1112), *Escherichia coli* (PTCC: 1338), *Aspergillus flavus* (PTCC: 5004) and *Penicillium chrysogenum* (PTCC: 5037) were obtained from the Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Iran.

The ripened fruits of mahaleb were collected from the orchard of Zanjan University, and transported to the laboratory. Harvest involved a random sampling from 5 trees. Stem and leaves were then discarded, and fruits stored at -18 ℃ until further use.

Frozen fruits were removed from the freezer, thawed and pitted. The fruit juice was obtained using a domestic juicer (Moulinex PC302, France). The juice was filtered through a stainless steel sieve (1 mm) to separate pomace from juice. The juice obtained was placed in dark glass bottles until further analysis.

Vitamin C content was determined using spectrophotometric method. Total phenolic content of the fruit juice was determined using Folin–Ciocalteu's assay. Total flavonoid and anthocyanin contents of the fruit juice were determined according to the colorimetric assay at 510 and 526 nm, respectively. Antioxidant activity was determined using Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging and reducing power of H_2O_2 methods.

Antimicrobial activity of mahaleb juice against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum* was evaluated using agar well diffusion, and minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration was determined using broth microdilution and surface methods.

Results and Discussion: According to the result obtained, vitamin C, total phenolic, total flavonoid, total anthocyanin content was 39.26±0.01 mg/100 mL, 303.00±0.06 mg GAE/100 mL, 17.00±0.01 mg Rutin/mL and 871.63±0.93 mg Cyanidin/100 mL, respectively. Free radical scavenging activity and reducing power of H_2O_2 was 72.30% and 6.33%, respectively. Based on these results the white mahaleb juice had bioactive compounds such as other fruits with blue and purple color. According to other researchers there was a higher positive correlation between the amounts of carotenoids, total phenolics and anthocyanins and the antioxidant activity. Of course, it should be noted that several factors such as the plant growth region and the harvest period might have

1 and 2. Former MS.c and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Zanjan University, Zanjan, Iran.
(*- Corresponding Author Email: zaringhalami@znu.ac.ir)

an impact on plant growth and metabolite concentration. Some studies also showed that dark red sour cherries contain higher total phenolic and total anthocyanin content compared to sour cherries with lighter red color. Therefore, mahaleb juice which was used in the current research with dark blue color and high total phenolic and anthocyanin content have high antioxidant activity.

The results also revealed that mahaleb juice had no inhibitory effect on *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum* whereas the minimum inhibitory concentration on 10^2 CFU/ml of *E. coli* and *Staphylococcus aureus* was obtained at 0.9 and 0.8 % concertation of mahaleb juice. In addition, no minimum bactericidal concentration was observed. So, mahaleb juice likely has no or little antifungal activity compared to antibacterial effects. Previous studies also showed that antimicrobial activity of many extracts related to their phenolic compounds and anthocyanins. Blueberry methanol extract was shown strongly inhibit the pathogenic bacteria, such as *E. coli* O157:H7. The antimicrobial properties of blueberry morelikely is due to the compounds of monomeric phenolics, anthocyanins and proanthocyanidins. Therefore, mahaleb juice as a source of natural bioactive compounds such as vitamin C, phenols, carotenoids and anthocyanins is recommended as functional food in industry, especially, after debittering.

Keywords: *White mahaleb* Juice, Bioactive Compounds, Antioxidant capacity, Antimicrobial activity